Ueber die

antibakteriellen Wirkungen

einiger Anilinfarbstoffe.

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt

Einer hohen medizinischen Fakultät

zu Erlangen

am 28. Juni 1888

von

AUGUST BECKH

approb. Arzt

aus Nürnberg.

Nürnberg 1889.

Druck von J. L. Stich.

Ueber die

antibakteriellen Wirkungen

einiger Anilinfarbstoffe.

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt

Einer hohen medizinischen Fakultät

zu Erlangen

am 28. Juni 1888

von

AUGUST BECKH

approb. Arzt

aus Nürnberg.

Nürnberg 1889.

Druck von J. L. Stich.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät zu Erlangen.

Referent: Herr Professor **Dr. Rosenthal.**

Seinem Vater

gewidmet

vom Verfasser.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546420_0031

Einer Anregung von Professor Dr. Penzoldt, der bei seinen Versuchen auf die antibakteriellen Eigenschaften einiger Anilinfarbstoffe aufmerksam geworden war, folgend, unternahm ich es, eine Reihe dieser Substanzen einer genaueren Untersuchung zu unterziehen, in wie weit sie etwa aufhebend, beziehungsweise verzögernd auf die Entwicklung von Bakterien wirkten. Von vorne herein musste es ja von theoretischem Interesse erscheinen, die Farbstoffe, welche zur Färbung von Bakterienpräparaten die ausgedehnteste Anwendung finden, auch bezüglich ihrer Einwirkung auf lebende Bakterien zu studieren. Wenn ich auch die Hoffnung hegte, in den untersuchten Farbstoffen etwa praktisch verwendbare antibakterielle Mittel zu finden, so trat doch diese Hoffnung im Anfang meiner Versuche nicht in den Vordergrund; denn es war ja zu fürchten, dass diese Substanzen, wenn sie sich auch als bakterienfeindlich erwiesen, doch wegen der sie auszeichnenden starken Färbekraft, eventuell auch wegen etwaiger giftiger Eigenschaften gegenüber dem tierischen Organismus gerade für die Praxis wenig geeignet sein würden. Von dieser Erwägung ausgehend, habe ich mir die Aufgabe gestellt, neben der Einwirkung auf Spaltpilze auch stets die Giftwirkung auf Tiere im Allgemeinen zu untersuchen und speziell in einigen Fällen die höchste zulässige Dosis für den Warmblüter festzustellen.

Was nun die Spaltpilzarten anlangt, die ich zu meinen Versuchen heranzog, so habe ich mir den Staphylococcus pyogenes aureus und den Bacillus Anthracis ausgewählt, welch beide sich wegen ihrer nicht leicht mit anderen Arten zu verwechselnden Wachstumsvorgänge am besten eigneten; in zweifelhaften Fällen wurde stets das Mikroskop zur Diagnose herangezogen. Ich benützte zu den Versuchen in erster Linie die Methode, welche R. Koch in seiner Arbeit „Ueber Desinfection“ *) angegeben hat; Beschreibung der Methode folgt bei den einschlägigen Versuchen. Ferner verwandte ich die von Esmarch angegebene „Rollmethode“**) zu meinen Versuchen und noch eine dritte, deren Beschreibung ebenfalls, wie die der beiden vorhergehenden, bei den Versuchen folgt.

Bezüglich der Giftigkeit der untersuchten Substanzen wurde als Grundbedingung völlige Arsenfreiheit aufgestellt; ferner wurden nur solche Farbstoffe zur Untersuchung herangezogen, die eine leichte Löslichkeit in Wasser aufzuweisen hatten, weil die Löslichkeit in Wasser eine Hauptvorbedingung ist für die einwurfsfreie Prüfung auf die antibakterielle Wirkung und auch für die etwaige praktische Verwendung. Zum Massstab wurde ferner noch genommen, dass man von den betreffenden Farblösungen eine kleine Quantität etwa auf kleine Wund- oder Schleimhautflächen applicieren könnte, ohne die etwaige Giftigkeit der Substanzen fürchten zu müssen, und solche Mengen verleibte ich dann Warmblütern ein und beobachtete dabei die hauptsächlichst auftretenden Allgemeinwirkungen.

Bevor nun an die Beschreibung der angestellten Untersuchungen und ihrer Resultate gegangen wird, dürfte eine

*) Mittheilungen aus dem kaiserlichen Gesundheitsamte, 1. Band, S. 240.

**) Esmarch, Ueber eine Modification des Koch'schen Plattenverfahrens zur Isolirung und zum quantitativen Nachweis von Mikroorganismen. Zeitschrift für Hygieine. Bd. I., S. 293.

kurze Charakteristik der chemischen Zusammensetzung, sowie der chemischen Eigenschaften der zu den Versuchen verwandten Farbstoffe am Platze sein*).

1. Malachitgrün oder Tetramethyldiamidotriphenylcarbinol hat die Formel $C_{23}H_{26}N_2O = [N(CH_3)_2 \cdot C_6H_4]_2 \cdot C(C_6H_5)\text{-}OH$; es wurde von ihm das grüne, in Blättchen krystallisierende, in Wasser leicht lösliche Oxalat verwandt.

2. Vom Fuchsin (Rosanilin, oder Triamidodiphenyltolylcarbinol) wurde ein aus grossen grünlichen, rhombischen Krystallen bestehendes Salz mit der Formel $C_{20}H_{19}N_3HCl$ verwandt.

Aus der Reihe der methylierten Rosaniline wurde verwandt:

3. Das unter dem Namen Hofmann's Violett in den Handel kommende salzsaure Salz des Trimethylrosanilin ($C_{23}H_{27}N_3O = C_{20}H_{18}(CH_3)_3N_3O$). Dasselbe wurde in pulverisiertem Zustande geliefert.

Ferner 4. ein Gemenge von Tetra-, Pentha- und Hexamethylrosanilin, unter dem Namen „Methylviolett" im Handel vorkommend, als Pulver.

Aus der Reihe der Rosaniline wurde ferner noch verwandt:

5. Das Triphenylrosanilin (Phenylblau) $C_{20}H_{19}\text{-}(C_6H_5)_3N_3O$ und zwar das in Wasser leicht lösliche Natriumsalz der Triphenylrosanilindisulfonsäure; ebenfalls ein pulverisiertes Präparat.

6. Das in grossen Stücken von dunkelroter Farbe von der Fabrik gelieferte Corallin ist ein Gemenge von $C_{19}H_{13}O_2NH_2 + C_{19}H_{12}O(NH_2)_2$. Dasselbe ist in Wasser leicht löslich.

Aus der Reihe der Fluoresceïne wurden untersucht:

7. Das Tetrabromfluoresceïn oder Eosin $C_{20}\text{-}H_8Br_4O_5$ und zwar dessen leicht wasserlösliches Kaliumsalz.

*) Beilstein, Handbuch der organischen Chemie, II. Abtheilung 1883.

Ferner 8. Das Tetrajodfluoresceïn $C_{20}H_8J_4O_5$ und zwar dessen unter dem Namen Rose Bengale im Handel vorkommendes Natriumsalz; es zeichnet sich durch grosse Löslichkeit in Wasser im Verhältnis zu den übrigen Farben aus. Beide Präparate, sowohl Eosin wie Rose Bengale, wurden in pulverisiertem Zustande gesandt.

9. Ein unter dem Namen Methylorange im Handel befindlicher Farbstoff ist seiner chemischen Zusammensetzung nach dimethylamidoazobenzolparasulfosaures Natrium, aus $\begin{matrix}CH_3\\CH_3\end{matrix}NC_6H_4 - N$(Helianthin) entstanden als $NC_6H_4SO_3Na$. Das Präparat ist pulverisiert.

Aus der Gruppe der Azoderivate wurde ferner 10. ein Salz des Triamidoazobenzol verwandt, das sogenannte Vesuvin oder Bismarckbraun $NH_2C_6H_4N-N-C_6H_3(NH_2)_2$. Dasselbe ist ein schwarzbraunes Präparat. Das von uns benützte war pulverisiert.

Aus obengenannter Gruppe wurden weiter verwandt 11. das Kaliumsalz der Diphenylamidoazobenzolsulfonsaure $C_{18}H_{15}N_3SO_3$. Das in kaltem Wasser nur sehr gering lösliche Salz $KC_{18}H_{14}N_3SO_3$ befindet sich als hellgelbes Pulver unter dem Namen Tropaeolin im Handel.

Ein 4. Azoderivat ist 12. das β Naphtol-azo-benzol-azobenzoldisulfosaure Natrium $C_{22}H_{16}N_4O_7$ im Handel unter dem Namen Scharlachrot oder Biebricher Scharlach eingeführt. Das Präparat befand sich in pulverisiertem Zustande.

Eine weitere Azoverbindung ist 13. das Diphenyltetrazo-anaphthylaminsulfosaure Natrium mit der Formel

$$C_{12}H_8 \begin{matrix}N_2 - C_{10}H_5(NH_2)SO_3Na\\N_2 - C_{13}H_5(NH_2)SO_3Na,\end{matrix}$$

unter dem Namen „Congorot“ im Handel bekannt; das benutzte Präparat war pulverisiert.

14. Rubinrot, in pulverisiertem Zustand, ist ein arsenfreies Fuchsinpräparat.

15. Indulin entsteht wie Tropaeolin aus der Diphenylamidoazobenzolsulfonsäure; es hat die Formel $C_{18}H_{15}N_3$ und ist ein Anilinsalz genannter Säure; von der Fabrik wurde es als Pulver geliefert.

16. Methylenblau $C_{16}H_{18}N_3SHCl$ ist ein in Wasser leicht lösliches Pulver von tiefdunkelblauer Farbe.

Zu den Versuchen wurden zuerst, soweit es angängig war, 0,2 % Lösungen verwandt, bei den späteren Versuchen gesättigte Lösungen; bei den meisten war mir das Prozentverhältnis genau bekannt; wo dies nicht der Fall war, bemerkte ich es an betreffender Stelle mit der Bemerkung „nahezu". Alle Lösungen wurden mit destilliertem Wasser hergestellt.

Die Präparate waren aus den chemischen Fabriken von E. Merck in Darmstadt und C. A. F. Kahlbaum in Berlin bezogen und zwar 1, 2, 4, 5, 8, 9, 12, 14 und 15 aus ersterer und 3, 6, 7, 10, 11, 13 und 16 aus letzterer.

Die erste Reihe von Versuchen wurde nun nach der Koch'schen Fadenmethode in folgender Weise angestellt. Mittelst einer Platinöse wurde einer Reinkultur von Staphylococcus pyogenes aureus auf Fleischwasserpeptongelatine eine geringe Menge entnommen und in einem Uhrschälchen in 1 – 2 Tropfen destillierten Wassers verrieben. Mit dieser Mischung wurden circa 1 cm. lange, feine, weisse Fäden getränkt und bis zur gänzlichen Antrocknung unter einer Glasglocke stehen gelassen. Die auf diese Weise präparierten Fäden wurden nun 10 Minuten lang mit den Farblösungen in Berührung gebracht und zwar wurden zu dieser ersten Versuchsweise, soweit es die Umstände erlaubten, lauter 0,2 % Lösungen verwandt; bei Fuchsin und Methylorange blieb ein kleiner Rückstand, während Tropaeolin sich nur zu 0,05 % löste. Nach der Färbung wurde die überschüssige Farbe möglichst entfernt und die Fäden darauf auf in sterilisierten Schälchen verwahrte Fleischwasserpeptongelatine aufgelegt, je 1—2 von jeder Farbe, und dann bei Zimmertemperatur sich selbst

überlassen. Zu gleicher Zeit wurden Controllproben hergestellt dadurch, dass einige der Fäden nach der Antrocknung noch mit destilliertem Wasser getränkt wurden und ebenfalls auf Galatine verbracht wurden. Immer nach 24 Stunden wurde das Wachstum kontrolliert; die Resultate sind in der folgenden Tabelle I aufgezeichnet.

Erwähnt muss noch werden, dass es leider nicht möglich war, aus verschiedenen Gründen, für jede einzelne Farbe ein besonderes Schälchen zu nehmen, sondern es mussten immer mehrere Fäden in eine Schale gelegt werden, wenn auch möglichst weit von einander; es kam dadurch manchmal zu Unzuträglichkeiten, die jedoch im Allgemeinen nicht störend auf die Versuche einwirkten; im Gegenteil sogar einigemale bestätigend für andere Resultate wirkten.

Fäden mit Staphylococcus pyogenes aureus getränkt und 10 Minuten in die Farblösung gelegt.

Tabelle I. Nährboden: Fleischwasserpeptongelatine.

Nr.	Farbstoff	Concentration	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag
1	Methylviolett . . .	0,2	0	0	0	0
2	Malachitgrün . . .	0,2	0	0	0	0
3	Phenylblau . . .	0,2	0	0	0	0
4	Trimethylrosanilin .	0,2	0	0	0	0
5	Methylenblau . . .	0,2	0	0	0	+ Schiml.
6	Rose Bengale . . .	0,2	0	0	0	+
7	Fuchsin	nahez. 0,2	0	0	0	+
8	Corallin	0,2	0	0	0	+
9	Vesuvin	0,2	0	0	+	+
10	Eosin	0,2	0	+	+	+
11	Methylorange . . .	nahez. 0,2	0?	+	+	+
12	Rubinrot	0,2	0?	+	+	+
13	Tropaeolin	0,5	0	+	+	+
14	Indulin	0,2	+	+	+	+
15	Congorot	0,2	+	+	+	+
16	Scharlachrot . . .	0,2	+	+	+	+
	Controllproben mit Aqua destillata	Bei den meisten am 2. Tage starke Entwicklung; bei einigen, die sehr nahe an mit Farbe getränkten Fäden liegen, oder zu denen etwas von der Farbe herübergeflossen ist, keine Entwicklung, z. B. bei Malachitgrün.				

Die Resultate dieses ersten Versuches ergaben also zunächst völlige Unwirksamkeit gegen den Staphylococcus pyogenes aureus für Indulin, Congorot und Scharlachrot, wesshalb diese drei Farbstoffe bei den weiteren Untersuchungen ganz ausser Acht gelassen wurden. Zweifelhaft blieb die Entwicklung am 2. Tage, d. h. also nach 24 Stunden, bei Methylorange und Rubinrot; doch wurden auch diese beiden, nachdem am 3. Tage sehr starke Entwicklung eingetreten war, nicht zu weiteren Versuchen verwandt. Von den übrigen Farbstoffen erwiesen sich als einen Tag verzögernd in ihrer Wirkung: Tropaeolin (in gesättigter Lösung) und Eosin; 2 Tage: Vesuvin; 3 Tage: Rose Bengale, Fuchsin, Corallin und Methylenblau; bei letzterem entwickelten sich am 5. Tage statt Pyogenes Schimmelpilze.

Am 5. Tage waren noch völlig frei von jeder Entwicklung: Methylviolett, Malachitgrün, Phenylblau und Trimethylrosanilin.

Eine längere Zeit wurde dieser Versuch nicht beobachtet, da schon diese kurze Zeit einen Schluss auf die Wirksamkeit beziehungsweise Unwirksamkeit zuliess.

Es wurden demgemäss weitere Versuche nur mit den Farben unternommen, die bis am 2. Tage noch kein Wachstum gezeigt hatten.

Es waren dies, um sie zusammenzufassen: 1. Methylviolett, 2. Malachitgrün, 3. Phenylblau, 4. Trimethylrosanilin, 5. Methylenblau, 6. Rose Bengale, 7. Fuchsin, 8. Corallin, 9. Vesuvin, 10. Eosin und 11. Tropaeolin.

Von diesen Farben wurden nun gesättigte Lösungen hergestellt; der Grad der Concentration ist stets bei den einzelnen Tabellen angegeben.

Mit diesen gesättigten Lösungen wurde nun ganz in der gleichen Weise wie bei dem ersten Versuche verfahren; nur wurden diesmal die Fäden nicht zehn Minuten der Ein-

wirkung der Farben überlassen, sondern nur eine Minute, da es ja natürlich vom höchsten Interesse in jeder Beziehung sein musste, die möglichst kürzeste Frist herauszuprobieren, in der den Farbstoffen noch eine Einwirkung auf Bakterien und speziell auf den Staphylococcus pyogenes aureus zukäme.

Die Resultate sind in Tabelle II zusammengestellt.

Fäden mit Staphylococcus pyogenes aureus getränkt und 1 Minute in die Farblösung gelegt.

Tabelle II. Nährboden: Fleischwasserpeptongelatine.

Nr.	Farbstoff	Concentration	2. Tg.	3. Tg.	4. Tg.	5. Tg.	6. Tg.	7. Tg.	8. Tg.	9. Tg.	10. Tg.	11. Tg.	12. Tg.
1	Methylviolett . .	2%	0	0	0	0	sistirt wegen starker Verflüssigung bei 10.						
2	Malachitgrün . .	4%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	Phenylblau . . .	4% nahezu	0	0	0	0	0	0	Schimmel				
4	Trimethylrosanilin	0,2% nahezu	0	0	0	0	Verflüssigung durch 10 hervorgerufen						
5	Methylenblau . .	3%	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	
6	Rose Bengale . .	10% nahezu	0	0	0	0	0	0	Schimmel				
7	Fuchsin	0,3%	0	0	0	+ auch Schml.							
8	Corallin	2%	0	+	+	+	+	+	Kolossale Entwicklung.				
9	Vesuvin	2%	0	0	0	+	+	+					
10	Eosin	2%	0	+	+	+	+	+					
11	Tropaeolin . .	0,05%	0	0	+	+	+						
12	Controllproben .		0	+	+	+							
			0	+	+	+							

Eine Zusammenfassung der Resultate dieses Versuches ergiebt Folgendes:

Am zweiten Tage zeigte sich nirgends Entwicklung, auch an den Controllproben nicht. Am dritten Tage beginnt die Entwicklung aufzutreten bei Corallin und Eosin, welche sich schliesslich bei ersterem kolossal ausbreitet; ebenso zeigten die Controllproben ein üppiges Wachstum.

Am vierten Tage beginnt die Entwicklung bei Tropaeolin und am fünften Tage bei Vesuvin und Fuchsin, bei welch' letzterem sich auch Schimmel zeigte. Diese eben besprochenen fünf Farben wurden zu einer weiteren Untersuchung nicht mehr herangezogen; dennoch geht aus diesem Versuche hervor, dass wenigstens Tropaeolin, Vesuvin und Fuchsin ohne Zweifel im Stande sind, auf die Entwicklung des Staphylococcus pyogenes aureus für kürzere Zeit einen hemmenden Einfluss auszuüben.

Am achten Tage zeigte sich bei Methylenblau Beginn der Pyogenes-Entwicklung und bei Rose Bengale und Phenylblau Schimmelentwicklung; wahrscheinlich waren bei der täglichen Controlle trotz aller Vorsicht Keime aus der Luft in das Schälchen geflogen.

Trimethylrosanilin konnte, ebenso wie Methylviolett, nachdem beide fünf Tage lang völlig frei geblieben waren, leider nicht mehr beobachtet werden wegen der starken Verflüssigung der Gelatine, hervorgerufen durch die enorme Pyogenes-Entwicklung beim Eosin.

Malachitgrün konnte bis zum 12. Tage beobachtet werden trotz starker Verflüssigung in seinem Schälchen; es schwamm nach dem 12. Tage völlig frei in der reichliche Pyogenes-Entwicklung zeigenden verflüssigten Gelatine umher.

Dieser Versuch wurde noch zwei Mal wiederholt, wieder mit gesättigten Lösungen und einer einminutenlichen Farbeneinwirkung. Diese Versuche wurden jedoch nur mehr auf: 1. Methylviolett, 2. Malachitgrün, 3. Trimethylrosanilin, 4. Rose Bengale, 5. Phenylblau und 6. Methylenblau als die bis jetzt wirksamsten ausgedehnt.

Die Resultate finden sich in den beiden folgenden Tabellen III und IV enthalten.

Fäden mit Staphylococcus pyogenes aureus getränkt und 1 Minute in die Farblösung gelegt.

Tabelle III. Nährboden: Fleischwasserpeptongelatine.

Nr.	Farbstoff	Concentration	2. Tg.	3. Tg	4. Tg.	5. Tg.	6. Tg.	7. Tg.	8. Tg.	9. Tg.	10. Tg.
1	Methylviolett . .	2%	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Malachitgrün . .	4%	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	Trimethylrosanilin	0,2% nahezu	0	0	0	Schimmel	Schimmel	Schml. stark			
4	Rose Bengale . .	10% nahezu	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	Phenylblau . . .	4% nahezu	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	Methylenblau . .	3%	0	0?	Schimmel	Schimmel	Schml. stark				
	Controllprobe . .		0	+	+	+					

Am 10. Tage hörte Beobachtung bei diesen Versuchen auf; Methylviolett, Malachitgrün, Rose Bengale und Phenylblau zeigten während der ganzen Beobachtungszeit sich frei von jeglicher Entwicklung. Trimethylrosanilin blieb bis zum fünften Tage frei; von da an zeigte sich geringe Schimmelentwicklung, welche am siebenten Tage zu einer sehr starken wurde. Methylenblau zeigte auch hier wieder Schimmelentwicklung und zwar war schon Verdacht auf dieselbe am dritten Tage, sichere Entwicklung am vierten Tage vorhanden. Die wie immer mit destilliertem Wasser hergestellte Controllprobe zeigte am dritten Tage (nach 48 Stunden) üppiges Wachstum.

Fäden mit Staphylococcus pyogenes aureus getränkt und 1 Minute in die Farblösung gelegt.

Tabelle IV. Nährstoff: Fleischwasserpeptongelatine.

Nr.	Farbstoff	Concentration	2. Tg.	3. Tg.	4. Tg.	5. Tg.	6. Tg.	7. Tg.	8. Tg.	9. Tg.	10. Tg.	11. Tg.	12. Tg.	13. Tg.	14. Tg.	15. Tg.
1	Methylviolett	2%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Malachitgrün	4%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	Rose Bengale	10% nahezu	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	Trimethylrosanilin . .	0,2% nahezu	0	0	0	0	0	Schimmel	Schimmel	stark						
5	Phenylblau .	4% nahezu	0	0	0	0	Schimmel	Schimmel	Schimmel	stark						
6	Methylenblau	3%	0	Schml. gering	Schimmel	Schimmel	sehr reichl.									
	Controllprobe		0	0	+	+	+	Verflüssigung								

Eine Zusammenfassung dieser Resultate ergibt: Methylviolett, Malachitgrün und Rose Bengale sind vollständig frei geblieben bis zum 15. Tage; von da an nicht mehr beobachtet. Bei Phenylblau, das beim letzten Versuch sich ebenfalls bis zum 10. Tage frei gehalten hatte, zeigte sich diesmal am 6. Tage Beginn von Schimmelentwicklung; Trimethylrosanilin blieb diesmal bis zum 7. Tage frei; von da an entwickelten sich Schimmelpilze; wahrscheinlich dürfte dies ebenfalls auf ein Hineinfallen von Keimen bei der Controlle zu beziehen sein; bei Methylenblau zeigte sich schon am 3. Tage Schimmelentwicklung. Da nun bei dieser Farbe sich mit einer einzigen Ausnahme (siehe Tabelle VI) früher oder später stets Schimmelpilzentwicklung gezeigt hatte, so konnte die Schuld nicht allein daran liegen, dass bei der Controlle aus der Luft Keime in die Schälchen etwa aufgenommen wurden, sondern sie musste mit grösster Wahrscheinlichkeit an der Lösung selbst liegen. Es wurden desshalb ebenso wie für Phenylblau, das ebenfalls schon öfters Schimmel gezeigt hatte, neue Lösungen bereitet und dieselben vor dem Gebrauch noch einmal aufgekocht. Mit diesen Lösungen wurde nun der Versuch wiederholt; ebenso

wurde der Versuch mit Trimethylrosanilin wiederholt, das zwei Mal Schimmelpilzentwicklung gezeigt hatte, jedoch mit der alten Lösung. Die Resultate sind in Tabelle IVa aufgezeichnet.

Fäden mit Staphylococcus pyogenes aureus getränkt und 1 Minute in der Farbe liegend.

Tabelle IVa. Nährboden: Fleischwasserpeptongelatine.

Nr.	Farbstoff	Concentration	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag
4	Trimethylrosanilin . .	0,2% nahezu	0	0	+	+
5	Phenylblau	4% nahezu	0	0	0	+
6	Methylenblau	3 %	0	0	0	0
	Controllprobe		0	+	+	+

Bei diesem Versuch trat Pyogenesentwicklung auf am 4. Tage bei Trimethylrosanilin, am 5. Tage bei Phenylblau. Methylenblau hatte sich frei erhalten 5 Tage lang, doch musste wegen starker Verflüssigung der Gelatine im Schälchen die Controlle aufgegeben werden. Die Controllprobe zeigte Entwicklung am 3. Tage.

Schon jetzt lässt sich aus den bisherigen Versuchen der Schluss ziehen, dass Methylviolett, Malachitgrün und Rose Bengale in gesättigten Lösungen bei Einwirkung von nur einer Minute sicher aufhebend auf die Entwicklung des Pyogenes aureus wirken; ob Trimethylrosanilin, Phenylblau und Methylenblau dies auch thun, darüber lässt sich erst nach den späteren Versuchen ein sicheres Urteil bilden; hemmend wirken sie aber ohne Zweifel in hohem Grade.

Die bisherigen Versuche mit Staphylococcus pyogenes aureus wurden nun in der Weise modifiziert, dass die Fäden, nachdem sie eine Minute der Farblösung ausgesetzt waren, eine Minute in destilliertem Wasser ausgewaschen wurden, um nach Möglichkeit die überschüssige Farbe zu entfernen;

diese Manipulation wurde desshalb vorgenommen, weil bei den bisherigen Versuchen die stark färbenden Substanzen, da natürlich ohne Wasser das Ueberschüssige nicht genügend entfernt werden konnte, in die Gelatine diffundierten und so eine längere Einwirkung auf die Fäden als beabsichtigt zu Stande kam, und die eigentliche Absicht war ja, möglichst kurze Fristen für die Einwirkung der färbenden Substanzen zu gewinnen.

Der gleiche Versuch wurde noch in der Weise angestellt, dass die Fäden in der Farblösung 3 Minuten blieben und dann 3 Minuten in destilliertem Wasser ausgewaschen wurden. Alle übrigen Details waren bei beiden Versuchen analog den vorhergehenden.

Die Resultate dieser Versuche sind in den Tabellen V und VI zusammengestellt.

Fäden mit Staphylococcus pyogenes aureus getränkt und 1 Minute in die Farbe gelegt und 1 Minute in Aqua destillata ausgewaschen.

Tabelle V. Nährboden: Fleischwasserpeptongelatine.

Nr.	Farbstoff	Concentration	2. Tg.	3. Tg.	4. Tg.	5. Tg.	6. Tg.	7. Tg.	8. Tg.	9. Tg.	10. Tg.	11. Tg.
1	Methylviolett . .	2%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Malachitgrün . .	4%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	Rose Bengale . .	10% nahezu	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	Trimethylrosanilin	0,2% nahezu	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	Phenylblau . . .	4% nahezu	0	0	0	0	0	0	Schimmel von 6 herübergewuchert			
6	Methylenblau . .	3%	0	0	Schimmel	Schimmel	sehr reichlich					
	Controllprobe . .		0	+	+	+	+		Verflüssigung			

Die Resultate ergeben für Methylviolett, Malachitgrün, Rose Bengale und Trimethylrosanilin bis zum 11. Tage völlige Freiheit von irgend einer Entwicklung. Phenylblau blieb bis zum 8. Tage frei, an welchem die von

Methylenblau ausgehende Schimmelentwicklung auf erstere Farbe übergriff.

Aus den nämlichen Gründen, welche zu einer Wiederholung einiger Versuche, welche in Tabelle IV aufgezeichnet waren, drangen, wurde auch hier für Phenylblau und Methylenblau demgemäss mit den frischen Lösungen der Versuch wiederholt. Die Resultate sind in Tabelle Va zusammengestellt.

Fäden mit Staphylococcus pyogenes aureus getränkt und 1 Minute in die Farblösung gelegt und 1 Minute in Aqua destillata ausgewaschen.

Tabelle Va. Nährboden: Fleischwasserpeptongelatine.

Nr.	Farbstoff	Concentration	2. Tg.	3. Tg.	4. Tg.	5. Tg.	
5	Phenylblau . . .	4% nahezu	0	0	0	+	wegen starker durch die Controllprobe hervorgerufener Verflüssigung aufgegeben.
6	Methylenblau . .	3% nahezu	0	0	0	0	
	Controllprobe . .		0	+	+	+	

Fünf Tage lang frei blieb bei diesem Versuche Methylenblau; von da ab musste die Controlle aufgegeben werden. Phenylblau zeigte diesmal schon am 5. Tage Pyogenesentwicklung.

Wie schon oben erwähnt, wurde dieser Versuch auch so angestellt, dass als Zeitdauer für Färbung und Auswaschung in destilliertem Wasser je 3 Minuten angenommen wurden.

Tabelle VI zeigt die Resultate an.

Fäden mit Staphylococcus pyogenes aureus getränkt, 3 Minuten in die Farblösung gelegt und 3 Minuten in Aqua destillata ausgewaschen.

Tabelle VI. Nährboden: Fleischwasserpeptongelatine.

Nr.	Farbstoff	Concentration	2. Tg.	3. Tg.	4. Tg.	5. Tg.	6. Tg.	7. Tg.	8. Tg.	9. Tg.	10. Tg.	11. Tg.
1	Methylviolett . .	2%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Malachitgrün . .	4%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	Rose Bengale . .	10% nahezu	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	Trimethylrosanilin	0,2% nahezu	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	Phenylblau . . .	4% nahezu	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	Methylenblau . .	3%	0	0	Schimmel	Schimmel						
	Controllprobe . .		0	0	+	+	+	+		Verflüssigung.		

Eine Zusammenfassung der in dieser Tabelle verzeichneten Resultate ergibt: Methylviolett, Malachitgrün, Rose Bengale, Trimethylrosanilin und Phenylblau sind bis zum 11. Tage völlig frei von jeder Entwicklung geblieben; die Controllprobe zeigte nach dreimal 24 Stunden üppiges Wachstum. Methylenblau blieb bis zum 4. Tage frei, von wo an es Schimmelpilzentwicklung zeigte; es wurde daher für dasselbe mit der oben erwähnten frischen Lösung der Versuch wiederholt. In Tabelle VIa sind die diesbezüglichen Resultate verzeichnet.

Fäden mit Staphylococcus pyogenes aureus getränkt, 3 Minuten in die Farblösung gelegt und 3 Minuten in Aqua destillata ausgewaschen.

Tabelle VIa. Nährboden: Fleischwasserpeptongelatine.

Nr.	Farbstoff	Concentration	2. Tg.	3. Tg.	4. Tg.	5. Tg.	
5	Phenylblau . . .	4% nahezu	0	0	0	0	wegen starker durch die Controlle hervorgerufener Verflüssigung aufgegeben.
6	Methylenblau . .	3%	0	0	0	0	
	Controllprobe . .		0	+	+	+	

Nach 5 Tagen, während welcher Zeit sich nur an der Controllprobe Pyogenesentwicklung zeigte, musste dieser Versuch aufgegeben werden.

Das Ergebnis der Resultate von Tabelle V und VI ist folgendes: In concentrierten Lösungen bei der kurzen Dauer der Einwirkung von 1 respective 3 Minuten wirken sicher aufhebend für den Staphylococcus pyogenes aureus: Methylviolett, Malachitgrün, Rose Bengale und Trimethylrosanilin. Phenylblau dürfte nur als stark verzögernd angenommen werden wegen des Resultats bei Va; trotzdem in Tabelle VI während der langen Beobachtungszeit von zehn Tagen sich ebenso wie bei den vier obengenannten kein Wachstum gezeigt hatte und auch bei dem vorhergehenden Versuche erst am 9. Tage durch Ueberwuchern von Methylenblau her sich Schimmel gezeigt hatte. Die aufhebende Wirkung des Methylenblau lässt sich noch nicht mit Sicherheit beweisen; erst die späteren Versuche werden hierin Klarheit bringen; eine Hemmung auf die Entwicklung des Pyogenes aureus dagegen geht schon mit Sicherheit auch aus diesen Versuchen hervor.

Ein Versuch anderer Art wurde nun mit der von Esmarch angegebenen Rollmethode veranstaltet.

Es wurde Bouillon aus Rindslende ganz in derselben Weise, wie es von R. Koch zur Bereitung der Fleischwasserpeptongelatine und des Agar-Agar angegeben wurde, zubereitet, nur mit Weglassung des Peptons. Von dieser natürlich sorgfältig sterilisierten Bouillon wurden etwa 4 Kubikcentimeter in ein gleichfalls sterilisiertes Reagensrohr gegossen und nun mittels einer vorher geglühten Platinnadel von einer auf Gelatine gezüchteten Reinkultur des Staphylococcus pyogenes aureus etwas in die Bouillon übergeimpft; das Reagensröhrchen sammt Inhalt wurde nun im Brütofen einer Temperatur von 39 Grad ausgesetzt. Schon nach wenigen Stunden zeigte sich die Entwicklung des

Staphylococcus durch deutliche Trübung an, welche nach 24 Stunden sehr stark geworden war.

Nach diesen vorbereitenden Schritten wurden nun die concentrierten Lösungen von Methylviolett, Malachitgrün, Rose Bengale, Trimethylrosanilin, Phenylblau und Methylenblau, den 6 Farbstoffen, welche auch zuletzt nur noch zu den Fadenversuchen genommen worden waren, zu gleichen Teilen mit sterilisierter Bouillon, je 2 Kubikcentimeter circa von beiden, in sterilisierten Reagensröhrchen innig gemischt, in diese Mischung wurde nun eine Platinöse voll von der Tags zuvor geimpften und im Brütofen entwickelten Bouillonkultur hineingebracht und diese 6 Röhrchen wurden wieder in den Brütofen, der eine Temperatur von 39 Grad hatte, verbracht und 24 Stunden stehen gelassen. Zu gleicher Zeit wurde von der vorerwähnten Bouillonkultur in neue Bouillon zur Controlle mittelst der Platinöse eine kleine Menge gebracht, um die Entwicklungsfähigkeit der gezüchteten Kultur nachzuweisen. Aus den gesättigten Lösungen der Farbstoffe waren nun selbstverständlich durch die Versetzung mit Bouillon halbgesättigte Lösungen geworden, was natürlich bei der Beurteilung der späteren Resultate von Wichtigkeit ist. Methylviolett wirkte jetzt in 1 % Lösung, Malachitgrün in 2 %, Rose Bengale in nahezu 5 %, Trimethylrosanilin in 0,1 % nahezu, Phenylblau in nahezu 2 % und Methylenblau in 1,5 % Lösung. Nach 24 Stunden wurde dann von diesen, mit Pyogenes versetzten Bouillon-Farbstoffmischungen je 1 Tropfen mit circa 1—2 Kubikcentimeter verflüssigter Fleischwassergelatine zusammengebracht und diese Masse nach inniger Mischung durch Rollen gleichmässig an die Wände des Reagensrohres verteilt, was, um schnelleres Erstarren herbeizuführen, in Eiswasser geschah. Die sich etwa entwickelnden Bakterien waren dadurch fein über die ganze Oberfläche der Gelatine verteilt. In gleicher Weise wurde eine Controllprobe auf Gelatine aus der Tags zuvor geimpften Bouillonkultur, die

sich ebenfalls wie die erste stark entwickelt hatte, hergestellt. Die sämmtlichen Proben wurden nun bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen und je nach 24 Stunden die Resultate aufgezeichnet, welche in folgender Tabelle (Nr. VII) enthalten sind.

Tabelle VII.

Nr.	Farbstoff	Concentration	2. Tg.	3. Tg.	4. Tg.	5. Tg.	6. Tg.	7. Tg.	8. Tg.	9. Tg.	10. Tg.	11. Tg.	12. Tg.
1	Methylviolett .	1%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Malachitgrün . .	2%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	Rose Bengale .	5% nahezu	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	Trimethylrosanilin	0,1% nahezu	0	0	0	0	0	0	0	+	Verflüssigung		
5	Phenylblau . .	9% nahezu	0	0	0	0	0	0	0	0?	0?	+	+
6	Methylenblau .	1,5% nahezu	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Controllprobe .		0?	+	+	Starke Entwicklung u. Verflüssigung							

Dieser Versuch zeigte das äusserst günstige Resultat, dass in keinem der Reagensröhrchen, mit alleiniger Ausnahme der Controllprobe, die eine sehr starke Entwicklung des Pyogenes aufzuweisen hatte, bis zum 8. Tage etwas gewachsen war, trotzdem nur halbgesättigte Lösungen zu diesem Versuche verwandt worden waren; jedoch muss hiebei auch der Umstand berücksichtigt werden, dass die Farblösungen 24 Stunden auf den Staphylococcus pyogenes aureus eingewirkt hatten, während bisher zehn Minuten die höchste Zeit der Einwirkung gewesen waren.

Am 9. Tage zeigten sich in den Röhrchen mit Trimethylrosanilin eine grosse Anzahl punktförmiger, weisser Kulturen; bei Phenylblau glaubte ich am 9. Tage eine einzige entdecken zu können; sichere Entwicklung trat erst am 11. Tage auf.

In halbgesättigten Lösungen wirken demnach sicher aufhebend Methylviolett, Malachitgrün, Rose Bengale und

Methylenblau; stark verzögernd Trimethylrosanilin und Phenylblau.

Schliesslich wurde noch nachstehender Versuch mit dem Staphylococcus pyogenes aureus und mit vier Farbstoffen, nämlich Methylviolett, Malachitgrün, Methylenblau und Rose Bengale angestellt.

Es wurden immer je 2 bis 3 Kubikcentimeter Fleischwasserpeptongelatine in sterilisierten Reagensgläsern verflüssigt, und die verflüssigte Gelatine nun innig mit circa zwei Tropfen der gesättigten Farbstofflösungen gemischt. Durch diese Mischungen wurde natürlich eine sehr starke Verdünnung der gesättigten Lösungen hervorgebracht, welche sich annähernd wie folgt berechnete: für Methylviolett ergab sich ein Prozentgehalt von 0,07 (auf den Tropfen von 0,05 Flüssigkeit 0,001 Substanz gerechnet, und je zwei Tropfen auf 3 Kubikcentimeter verteilt); für Malachitgrün stellte sich der Prozentgehalt auf 0,133 (Ausrechnung wie oben; der Tropfen wurde immer zu 0,05 angenommen); für Methylenblau rechnete sich ein Prozentgehalt von 0,1 aus, und für Rose Bengale ein solcher von 0,33 . . . . .

Auf diesem in Eis rasch zum Erstarren gebrachten Nährboden wurde dann mittelst der Platinnadel eine Stichkultur von Staphylococcus pyogenes aureus hergestellt, und bei Zimmertemperatur alle 24 Stunden der Beobachtung unterzogen. Eine Controllprobe auf reine Gelatine wurde ebenfalls geimpft. Tabelle VIII zeigt die Resultate dieses Versuches an.

Tabelle VIII.

Nr.	Farbstoff	Proz.-Gehalt	2. Tag	3. Tag	4. Tag	8. Tag	14. Tag	17. Tag	18. Tag	26. Tag
1	Methylviolett .	0,07%	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Malachitgrün .	0,133%	0	0	0	0	0	0	0	0
3	Methylenblau .	0,1%	0	0	0	0	0	0	0	0
4	Rose Bengale .	0,33%	0	0	+	+	+	+	+	Verflüssg.
	Controllprobe .		0	+	+	starke Entwicklung u. Verflüssigung				

Zusammenfassung: Methylviolett, Malachitgrün und Methylenblau zeigten bis zum 26. Tage, also der ganzen bisherigen Beobachtungszeit, keine Entwicklung; Rose Bengale wies am 4. Tage geringe Entwicklung von Pyogenes auf, welche nur äusserst langsam in die Tiefe fortschritt. Dieses Resultat steht scheinbar im Widerspruch mit den bisherigen, bei denen sich bei Rose Bengale fast nie Entwicklung gezeigt hatte; doch muss bedacht werden, dass es sich hier um einen sehr geringen Prozentgehalt (0,33) handelt, und es hatte sich ja schon bei dem ersten Versuche mit 0,2 % Lösungen am 5. Tage deutliche Entwicklung gezeigt.

Die Schlussfolgerung aus diesem Versuche ist:

Methylviolett, Malachitgrün und Methylenblau wirken auch noch in Lösungen mit sehr geringem Prozentgehalt entschieden aufhebend auf die Entwicklung des Staphylococcus pyogenes aureus; Rose Bengale, das in concentrierten Lösungen den gleichen Einfluss ausübt, vermag dies mit dem geringen Prozentgehalt von 0,33 % nicht mehr, sondern ist lediglich im Stande, für kurze Zeit einen verzögernden Einfluss auszuüben.

Das Endergebnis der sämtlichen mit dem Staphylococcus pyogenes aureus ist demnach kurz folgendes: Sicher aufhebend auf seine Entwicklung wirken Methylviolett, Malachitgrün und Methylenblau. Rose Bengale wirkt nur in gesättigten und halbgesättigten Lösungen aufhebend, in schwachen dagegen nur verzögernd; Trimethylrosanilin wirkt nur in gesättigten Lösungen aufhebend, in schwächeren dagegen stark verzögernd; Phenylblau wirkt in gesättigten Lösungen nur stark verzögernd, ebenso in schwächeren.

Es musste nun nach diesen Resultaten gewiss von hohem Interesse sein, die Einwirkung der Farben auch auf andere pathogene Pilze zu untersuchen, und ich wählte hiezu aus schon obenerwähnten Gründen den Bacillus Anthracis.

Mit Milzbrand wurden nur Versuche nach der Kochschen Fadenmethode angestellt. Die Fäden wurden mutatis mutandis ganz in gleicher Weise präparirt wie bei Staphylococcus pyogenes aureus. Zur Untersuchung wurden jedoch nur concentrierte Lösungen verwendet, und von vorneherein alle diejenigen Substanzen ausgeschlossen, welche sich gegen den Staphylococcus pyogenes aureus gar nicht oder nur sehr gering wirksam gezeigt hatten.

Es wurden demnach zur ersten Versuchsreihe ausgewählt: 1. Methylviolett 2 %, 2. Malachitgrün 4 %, 3. Trimethylrosanilin 0,2 %, 4. Methylenblau 3 %, 5. Fuchsin 0,3 %, 6. Corallin 2 %, 7. Vesuvin 2 %, 8. Eosin 2 %, 9. Tropaeolin 0,05 %.

Die mit Milzbrand getränkten Fäden wurden eine Minute in die Farbe gelegt und dann auf Fleischwasserpepton-Agar-agar verbracht. Am 1. Tage standen die Schälchen im Brütofen bei 40 Grad, und von da an im Zimmer bei circa 20 Grad; Controllprobe wurde wie immer angelegt. Die Resultate zeigt Tabelle IX an.

Fäden mit Milzbrand getränkt und 1 Minute in der Farblösung liegend.

Tabelle IX. Nährboden: Fleischwasserpepton-Agar-agar.

Nr.	Farbstoff	Concentration	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	9. Tag	10. Tag
			Temper. 40 Grad	circa 20 Grad	circa 20 Grad	circa 20 Grad	circa 20 Grad	circa 20 Grad	circa 20 Grad	circa 20 Grad	circa 20 Grad
1	Methylviolett .	2 %	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Malachitgrün .	4 %	+ ?	+ ?	+ ?	+ ?	+ ?	+ ?			
3	Trimethylrosanilin . .	0,2 % nahezu	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	Methylenblau .	3 %	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	Fuchsin . . .	0,3 %	+	+	+						
6	Corallin . . .	2 %	+	+	+						
7	Vesuvin . . .	2 %	+	+	+		Sehr starke Milzbrandentwicklung.				
8	Eosin	2 %	+	+	+						
9	Tropaeolin . .	0,05 %	+	+	+						
	Controllprobe .		+	+	+						

Zusammenfassung: Schon nach 24 Stunden gedieh bei Fuchsin, Corallin, Vesuvin, Eosin und Tropaeolin eine typische Milzbrandkultur in üppiger Weise; es wurden desshalb, um ein langsameres Wachstum herbeizuführen, die Schälchen aus dem Ofen genommen und bei Zimmertemperatur, die eine zur Milzbrandentwicklung nötige Höhe von circa 20 Grad hatte, aufgestellt; auch bei dieser Temperatur ging die Entwicklung rüstig vorwärts. — Obige fünf Farben wurden auf Grund dieser Resultate von jeder weiteren Untersuchung ausgeschlossen.

Bei Trimethylrosanilin zeigte sich auch schon am 2. Tage Entwicklung, aber so sehr langsam, dass entschieden eine Verzögerung des Wachstums anzunehmen war, wesshalb auch mit dieser Farbe weiter experimentiert wurde. Der Grund der Entwicklung mag wahrscheinlich daran gelegen sein, dass in nächster Nähe im Schälchen starke Entwicklung eingetreten war, und die Substanz wohl die Kraft gehabt hatte, die Bacillen des eigenen Fadens unwirksam zu machen, aber nicht mehr im Stande war, dem sich an anderer Stelle frisch entwickelnden Bacillus zu widerstehen.

Bei Malachitgrün zeigte sich auch am 2. Tage die Entwicklung einer Kultur; leider versäumte ich es, hier mikroskopische Untersuchung eintreten zu lassen; doch berechtigen die späteren Versuche, die eine eminente Milzbrandfeindlichkeit des Malachitgrün nachwiesen, zu der Annahme, dass es sich in diesem Falle auch nicht um Anthrax gehandelt haben konnte.

Gänzlich frei blieben während der ganzen Beobachtungszeit von zehn Tagen Methylviolett und Methylenblau.

Der gleiche Versuch wurde nunmehr lediglich mit Methylviolett, Malachitgrün, Trimethylrosanilin und Methylenblau angestellt, und zwar in einem grossen Schälchen bei Zimmertemperatur 15 bis 20 Grad. In Tabelle X sind die Resultate verzeichnet. Controllprobe wurde wie in allen vorangehenden Fällen angelegt.

Fäden mit Milzbrand getränkt und 1 Minute in der Farblösung liegend.

Tabelle X. Nährboden: Fleischwasserpepton-Agar-agar.

Nr.	Farbstoff	Concentration	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	9. Tag	10. Tag
			Temperat. 15—20 Grad	15—20 Grad	15—20 Grad	15—20 Grad	15—20 Grad	15—20 Grad	15—20 Grad	15—20 Grad	18—20 Grad
1	Methylviolett	2%	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Malachitgrün	4%	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	Methylenblau	3%	0	0	0	0	Schimmel	Schimmel			
4	Trimethylrosanilin	0,2% nahezu	0	0	0	Schimmel	Schimmel				
	Controllprobe		0	0	0	0	+	+	+	+	+

Aus diesem Versuche ergiebt sich, dass Methylviolett und Malachitgrün vollständig frei geblieben sind; selbst als nach 18 Tagen das Schälchen mir noch einmal in die Hände kam, waren diese beiden Farben, resp. deren Fäden trotz reichlicher Anthraxentwicklung bei der Controllprobe einerseits und reichlicher Schimmelentwicklung anderseits vollständig von jeglicher Entwicklung freigeblieben. Methylenblau zeigte am 6. Tage Schimmelentwicklung, Trimethylrosanilin am 5. Tage. Der Grund, warum bei der Controllprobe erst am 5. Tage sich Milzbrandentwicklung nachweisen liess, war der, dass vom Methylviolett an den Controllfaden etwas herüber diffundiert war, was begreiflicherweise nach den bisherigen Resultaten verzögernd wirken musste.

Der letzte Versuch wurde noch einmal wiederholt, und zu demselben auch die concentrierten Lösungen von Phenylblau (4% nahezu) und Rose Bengale (nahezu 10 %) herangezogen. Tabelle XI referiert über die Resultate.

Fäden mit Milzbrand getränkt und 1 Minute in der Farblösung liegend.

Tabelle XI. Nährboden: Fleischwasserpepton-Agar-agar.

Nr.	Farbstoff	Concentration	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	9. Tag	10. Tag
			Temperatur: Brütofen bei 39 Grad								
1	Methylviolett .	2%	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Malachitgrün .	4%	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	Methylenblau .	3%	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	Trimethyl-rosanilin . . .	0,2% nahezu	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	Phenylblau . .	4% nahezu	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	Rose Bengale .	10% nahezu	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Controllprobe .		+	+	+						

Die Resultate dieses Versuches ergaben bis zum 10. Beobachtungstage für sämtliche sechs Farben Freiheit von Milzbrandentwicklung.

Die Ergebnisse der Versuche, die Fäden nur eine Minute in concentrierten Lösungen zu lassen, sind nun bis jetzt kurz folgende:

Entschieden aufhebend wirken Methylviolett und Malachitgrün, wahrscheinlich auch Methylenblau; Trimethylrosanilin, das beim ersten Versuche langsame Entwicklung gezeigt hatte, bei den beiden anderen bei kurzer Beobachtungszeit keine, darf wegen des ersten negativen Ausfalles nur zu den verzögernden gerechnet werden; Phenylblau und Rose Bengale können bis jetzt lediglich als entwicklungshemmend bezeichnet werden.

Die gleichen Erwägungen, die mich bei den Versuchen mit Staphylococcus pyogenes aureus geleitet hatten, bestimmten mich auch bei diesen Untersuchungen, nach der Durchtränkung mit dem Farbstoff die Fäden in destilliertem

Wasser auszuwaschen, und zwar wurden einmal die Fäden eine Minute der Farbe und eine Minute dem destillierten Wasser, und ein andermal die Fäden je drei Minuten der Farbe und dem destillierten Wasser ausgesetzt. Die Resultate sind in Tabelle XII und XIII zusammengestellt.

Fäden mit Milzbrand getränkt, 1 Minute in die Farblösung gelegt und 1 Minute in destilliertem Wasser ausgewaschen.

Tabelle XII. Nährboden: Fleischwasserpepton-Agar-agar.

Nr.	Farbstoff	Concentration	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	9. Tag	10. Tag
			Temperatur: Brütofen bei 39 Grad								
1	Methylviolett . .	2 %	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Malachitgrün . .	4 %	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	Methylenblau .	3 %	0	0	+	+	äusserst geringe Entwicklung				
4	Trimethyl-rosanilin . . .	0,2 % nahezu	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	Phenylblau . .	4 % nahezu	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	Rose Bengale .	10 % nahezu	+	+	+	+	+				
	Controllprobe .		+	+	+	+	+				

Die Resultate ergeben: Völlig frei bleiben bis zum 10. Tage Methylviolett, Malachitgrün, Trimethylrosanilin und Phenylblau. Am 4. Tage entwickelt sich der Milzbrand bei Methylenblau, und schon nach 24 Stunden ist üppige Entwicklung bei Rose Bengale vorhanden.

Die Versuche mit dreiminutenlicher Dauer sind in folgender Tabelle (XIII) enthalten.

Fäden mit Milzbrand getränkt, 3 Minuten in die Farblösung gelegt, und 3 Minuten in destilliertem Wasser ausgewaschen.

Tabelle XIII. Nährboden: Fleischwasserpepton-Agar-agar.

Nr.	Farbstoff	Concentration	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	9. Tag	10. Tag
			Temperatur: Brütofen bei 39 Grad								
1	Methylviolett .	2%	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Malachitgrün .	4%	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	Methylenblau .	3%	0	+	+	+					
4	Trimethyl-rosanilin . . .	0,2% nahezu	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	Phenylblau . .	4% nahezu	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	Rose Bengale .	10% nahezu	+	+	+	+	+				
	Controllprobe .		+	+	+	+	+				

Die Resultate sind die gleichen wie die des vorigen Versuches; nur zeigt sich die Milzbrandentwicklung bei Methylenblau schon am 3. Tage. Eine Zusammenfassung sämtlicher Versuche gibt, soweit es sich bis jetzt übersehen lässt, kurz folgendes Ergebnis:.

Sicher aufhebend in concentrierten Lösungen wirken, auch nachdem durch die Auswaschungen nur eine ganz kurze Einwirkungszeit erzielt war, Methylviolett, Malachitgrün und Phenylblau; Methylenblau wirkt nur aufhebend bei einer Einwirkung von einer Minute ohne nachgängige Auswaschung; für ganz kurze Fristen kann es nur als verzögernd bezeichnet werden; Trimethylrosanilin hatte nach Tabelle IX anfangs verzögernde Wirkung ausgeübt. Bei den späteren Versuchen blieb es stets von Entwicklung frei. Die schon bei Besprechung der Tabelle IX gepflogenen Erwägungen können der Farbe nur die Eigenschaft einer starken Verzögerung zuerkennen. Rose Bengale wirkt kaum hemmend, wenigstens nicht bei ganz kurzer Einwirkung.

Nachdem der eigentliche Zweck meiner Aufgabe, die antibakteriellen Wirkungen der Farbstoffe zu untersuchen, erfüllt war, blieb mir noch die weitere Aufgabe, die untersuchten Substanzen in ihrer Wirkung auf den tierischen Organismus der Beobachtung zu unterstellen, da ja von dem Ausfall dieser Versuche ihre etwaige praktische Verwertbarkeit abhängen muss.

Zu diesen Versuchen wurden lediglich nur die auch zu den engeren, antibakteriellen Untersuchungen verwandten Farbstoffe benützt, also Methylviolett, Malachitgrün, Rose Bengale, Trimethylrosanilin, Phenylblau und Methylenblau.

Es wurden zunächst Injektionsversuche an Fröschen gemacht und diesen Tieren jedesmal eine bestimmte Quantität stets in den Rückenlymphsack eingespritzt, und zwar meistens 1—2 Teilstriche der Pravaz'schen Spritze. Die Lösungen waren meist concentriert.

Die Tiere waren alle ziemlich gleich gross und wogen zwischen 20 und 30 Gramm.

1. Methylviolett.

Ein mittelgrosser Frosch erhält von 2 % Lösung 2 Teilstriche einer Pravaz'schen Spritze, also 0,04 der Substanz in concentrierter Lösung. Zeit der Injektion: $9^3/_4$ Uhr. — Tier anfangs noch sehr munter.

$10^1/_4$ Uhr: Frosch erträgt Rückenlage.

$10^1/_2$ Uhr: Hintere Extremitäten völlig gelähmt; Frosch kann nicht mehr springen.

10. 35. Vordere Extremitäten ebenfalls gänzlich gelähmt; gegen jeden Reiz unempfindlich; von Zeit zu Zeit gehen Zuckungen durch den ganzen Körper.

10. 40. Rückenhaut, Kopfhaut, Mundhöhle, sämtliche Extremitäten schön violett gefärbt, Bauchhaut frei. Auf der Bauchseite nur der von einer vorderen Extremität zur anderen ziehende Muskel hellviolett gefärbt.

Da das Tier keinerlei Lebenszeichen von sich gibt, wird es getötet.

Section: Rücken-, Bauchmuskulatur, Kopf, Mundhöhle violett gefärbt; Extremitätenmuskulatur frei von Farbe; Peritoneum violett; Herz kontrahiert sich noch, aber äusserst langsam; Blut

dunkelbraunroth; Muskulatur violett; Lungen violett; Bauchorgane und Centralnervensystem normal.

Dieser Versuch wurde an einem gleich grossen Tiere mit der gleichen Menge wiederholt, und zeigte im Wesentlichen dieselben Erscheinungen: Allmälige Lähmung, ataktische Erscheinungen, Kürzerwerden der Sprünge, Gefühllosigkeit. Nach 40 Minuten ist vollständige Lähmung eingetreten, und nach 3 Stunden unter allmäliger langsamer Abnahme der Athmungsfrequenz erfolgt der Tod. Sektion ergiebt: Mit Ausnahme der Zunge und der Extremitäten totale Violettfärbung der ganzen Haut und Muskulatur. — Violettfärbung sämtlicher innerer Organe, auch der Hoden. — Centralnervensystem ganz schwach violett.

Da diese bisher verwandten Mengen so ungemein giftig gewirkt hatten, erhielt das nächste Tier nur 0,0004 in Lösung (0,2 % Lösung); das Resultat war jedoch ganz das gleiche wie beim vorigen Versuch. Nach 3 Stunden war der Frosch, nachdem er alle angegebenen Erscheinungen durchgemacht hatte, tot.

Sektion ergab das gleiche Resultat wie beim ersten Frosch, ausserdem noch eine schwache Violettfärbung des Centralnervensystems an der Oberfläche.

2. Malachitgrün.

Ein mittelgrosser Frosch erhält 0,008 in Lösung (4 % Lösung) injiciert, also 2 Teilstriche der Pravaz'schen Spritze. Das Tier ist nach wenigen Minuten total gelähmt, reagiert auf keinen Reiz und ist nach 10 Minuten tot.

Sektion: Haut- und Muskulatur von Kopf, Rücken und Extremitäten, ebenso stellenweise Bauchhaut intensiv grün gefärbt. Von den inneren Organen nur Lungen grünlich gefärbt.

Centralnervensystem zeigt einen undeutlichen grünen Anflug.

Wegen des so sehr rasch erfolgten Todes des sehr mageren Tieres wurde der Versuch mit der gleichen Menge mit einem kräftigeren wiederholt.

9 Uhr: Sofort nach der Injektion kann der Frosch nicht mehr hüpfen, sondern kriecht nur, die hinteren Extremitäten nachschleppend; Bauchlage gewinnt er noch aus Rückenlage;

9. 10. Tier springt wieder munter umher; auf Nadelstiche keine Reaktion;

9. 20. Maul wird weit aufgerissen;

9. 25. Maul immer noch offen, wird durch Zusammendrücken geschlossen; Rückenlage wird vertragen; Extremitäten

bleiben meistens liegen, wie sie vom Untersuchenden gelegt werden;

9. 30. Maul wieder offen;

9. 35. Vollständige Lähmung;

9. 40. Tod.

Sektion: Haut und Muskulatur des ganzen Körpers mit Ausnahme der Unterschenkel intensiv grün; Lungen grünlichgrau; Herz: Blut schmutzigrot, Muskulatur grün; Leber: schwarz; Galle: dunkelgrün; alles übrige normal.

Ein drittes Tier erhält nur 0,0004 Substanz in Lösung (0,2 %). Das Tier bleibt die ersten zehn Minuten normal, verhält sich aber von da im Grossen und Ganzen wie das vorige und ist nach 50 Minuten tot.

Sektion: Mit Ausnahme einer nicht so ausgebreiteten Grünfärbung der Haut und Muskulatur wie beim letzten Tiere.

3. Rose Bengale.

Kleiner, sehr magerer Frosch erhält 0,02 Rose Bengale in Lösung (10 %).

Sofort vollständige Lähmung.

Nach wenigen Minuten tot.

Sektion: Rosafärbung von Rückenhaut und Muskulatur, Mundhöhle, Peritoneum und Lungen; Herz-Muskulatur und Blut dunkelrot; Leber fast schwarz; alles übrige normal.

Der Versuch wird mit einem kräftigen, mittelgrossen Tier mit der gleichen Menge wiederholt.

Erst nach 5 Stunden zeigen sich Veränderungen im Wesen des Tieres; Rückenlage wird ertragen; abgezogene Extremitäten nur zögernd angezogen; ganzer Körper rosa gefärbt.

Nach $5^1/_2$ Stunden: Tier wieder munter; Fluchtversuche; Rückenlage nur manchmal ertragen.

Nach 6 Stunden: vollständig munter mit völlig wiedergekehrter Reaktion auf Nadelstiche.

Am nächsten Tag: Tier sehr munter.

Nach 30 Stunden immer noch munter; Fluchtversuche; Extremitäten werden rasch angezogen; Rückenlage ertragen; starke Aufblähung des Leibes.

In der Nacht nach circa 36—40 Stunden tot; Extremitäten weit abgestreckt.

Sektion: Das ganze Tier bis auf's Knochenmark stark rosa gefärbt, ebenso alle inneren Organe mit Ausnahme der Eierstöcke; im Magen rosa gefärbter Schleim.

Gehirn sehr gering äusserlich rosa gefärbt.

Rückenmark normal.

Ein drittes mit der gleichen Menge eingespritztes Tier verhält sich im Ganzen völlig gleich; Tod tritt zur gleichen Zeit ein.

Sektion: wie beim vorhergehenden.

4. Trimethylrosanilin.

Mittelgrosser Frosch erhält 2 Teilstriche der Pravazspritze von 0,2 % Lösung, also 0,0004 Substanz in Lösung um 10 Uhr.

10 Uhr 10 M. Vollständige Lähmung und Gefühllosigkeit; Rückenlage ertragen; Athmung nicht bemerkbar.

10. 25. Frosch reagiert auf Nadelstiche hie und da mit Zuckungen; Rückenhaut nur gering, Bauchhaut violett gefärbt.

10. 30. Kein Lebenszeichen mehr.

Sektion: Rücken- und Bauchhaut und Muskulatur schwach violett; Peritoneum violett; Lungen violett; Herz: dunkelrot violett; Bauchorgane normal, ebenso Centralnervensystem.

Der Versuch wird an einem kräftigeren Tiere mit der gleichen Menge wiederholt. Das Tier bietet bis zu seinem nach 6 Stunden erfolgten Tod im Grossen und Ganzen das gleiche Bild wie die bisherigen Versuchstiere: Lähmung, Ertragen der Rückenlage, Sensibilitätsstörungen, allmälige Färbung etc.

Sektion: Kopf, Rücken, Bauchhaut, Muskulatur dunkelviolett gefärbt, ebenso Mundhöhle mit Ausnahme der Zunge; Peritoneum violett; Lungen violett; Herz, Muskulatur und Blut dunkelrot.

Mikroskopische Untersuchung des Blutes ergiebt keine Veränderung.

Leber schwarzbraun; Galle dunkelgrün; Magen-Darmkanal violett; im Magen violett gefärbter Schleim; Hoden normal, ebenso Centralnervensysten.

5. Phenylblau.

Mittelgrosser Frosch erhält von 4 % Lösung 2 Teilstriche, also 0,008 Substanz in Lösung.

Zeit der Injektion: 9 Uhr. Tier nach derselben sehr munter.

9. 15. Blaufärbung an Rücken, Bauch und Ansatz der hinteren Extremitäten.

9. 30. Rückenlage ertragen; stärkere Färbung; energisches Reagieren auf Reize durch Fluchtversuche.

Bis 1 Uhr: Status idem. Von da an allmäliger Verlust der Munterkeit. Kürzere Sprünge; auf Reize keine Fluchtversuche; Extremitäten werden noch angezogen.

1. 30. Vollständige Blaufärbung von Rücken und Bauch.
2 Uhr: Tier bleibt völlig apathisch auf der Stelle liegen, wo es hingelegt wird. Extremitäten auf Reize nur ganz zögernd angezogen.
2. 15. Tier reagiert auf keinen Reiz mehr.
2. 30. Tod.

Sektion: Kopf, Rücken, Bauchhaut und Muskulatur, Mundhöhle mit Ausnahme der Zunge blau, ebenso Peritoneum; Lungen bläulich; Herz, Muskulatur dunkelblau, Blut dunkelroth; Leber fast schwarz, Galle blaugrün; Magen-Darmkanal normal, ebenso Centralnervensystem.

6. Methylenblau.

Mittelgrosses Tier erhält von 3% Lösung einen Teilstrich der Pravaz'schen Spritze, also 0,003 der Substanz in Lösung um 9 Uhr.

9. 5. Tier noch sehr munter; Blaufärbung der ganzen Rückenhaut.
9. 20. Deutliche Erscheinungen von Parese; Rückenlage ertragen; Springen noch möglich; auf Reize wird nicht mehr reagiert; hintere Extremitäten bleiben in der ihnen gegebenen Lage liegen, ohne angezogen zu werden.
9. 25. Vordere Extremitäten auch paretisch.
9. 28. L. Vordere Extremität gänzlich gelähmt.
R. Vordere wird auf Reize nur noch zögernd angezogen. Auf Nadelstiche keine Reaktion mehr.
9. 30. Vollständige Lähmung der rechten vorderen Extremität. Vollständige Blaufärbung des Tieres mit Ausnahme der Unterschenkel der hinteren Extremitäten.
9. 35. Tod.

Sektion: Blaufärbung der ganzen Haut und Muskulatur; innere Organe durchweg normal.

Für den Frosch hatten sich, den vorangehenden Versuchen gemäss, sämtliche Farbstoffe mehr oder weniger giftig erwiesen, immer aber, wenn auch nach längerer Zeit, tötlich selbst in geringen Dosen. Es galt nun, noch die Wirkungen der untersuchten Substanzen an Warmblütern zu studieren, und eventuell die Dosis, die noch ohne Schaden ertragen werden konnte, herauszufinden.

Zu diesem Zwecke wurden Injektionsversuche an Kaninchen angestellt, und zwar wurden dieselben stets in die Rückenhaut gemacht; um die für alle Substanzen gleiche Dosis zu bestimmen, wurde von der 4% Malachitgrünlösung ausgegangen, und von

dieser auf 1 Kilogramm 0,1 der Substanz in Lösung injiciert; darnach stellte sich für Methylviolett die Dosis pro Kilogramm auf 0,05, für Rose Bengale auf 0,25, für Trimethylrosanilin auf 0,02, für Phenylblau auf 0,1 und für Methylenblau auf 0,075 pro Kilogramm. Diese Dosen waren viel geringer als die den Fröschen einverleibten; die den Fröschen einverleibte Dosis von Malachitgrün würde z. B., auf's Kaninchen ausgerechnet, 0,4 pro Kilogramm ergeben haben.

Es wurde nun zunächst ein hellbraunes Kaninchen von 1570 Gr. Gewicht mit gesättigter Methylviolettlösung injiciert, und zwar erhielt dasselbe $3^9/_{40}$ Pravaz'sche Spritzen voll, also 0,078 Substanz in Lösung. Bis zum 15. Tage wurde an dem Tiere keinerlei Abnormität entdeckt, und insbesondere keine Lähmungserscheinungen, noch Störungen in Nahrungs-Aufnahme und -Abgabe. Am 15. Tage konnte eine geringe Gewichtsabnahme auf 1400 Gramm konstatiert werden; an diesem Tage bemerkte ich auch erst auf dem Rücken an der Injektionsstelle eine etwa thalergrosse, trockene Hautgangrän, von der aus sich ein etwa 8 Centimeter langer und $^1/_2$ Centimeter breiter Gangränstreifen nach dem Bauch zuzog, entsprechend dem Verlauf, den die Injektionsflüssigkeit unter der Haut genommen hatte; auf dem Bauch, jedoch durch eine schmale Brücke von dem Ende des Streifens getrennt, befand sich eine etwa handtellergrosse, ebenfalls durch Gangrän in Zerstörung begriffene Hautstelle. Die Gangrän schien dem Tiere nicht die geringsten Beschwerden zu machen; es war immer ganz munter und frass auch alles, was ihm vorgelegt wurde. Diese Umstände waren auch der Grund, dass ich diese Stellen nur ganz zufällig bemerkte. Am 17. Tage war die Gangrän vollständig demarkiert und ganz hart und schwarz geworden, und begann sich von da an allmälig abzustossen. Am 22. Tage war das Körpergewicht auf 1320 Gramm herabgesunken; das übrige Verhalten des Tieres blieb durchaus normal. Bis zum 30. Tage hatte sich das Gewicht wieder auf 1400 Gramm gehoben; die gangränöse Haut hat sich nahezu abgestossen. Am 31. Tage ist dies gänzlich der Fall; der Grund der Hautdefekte auf Rücken und Bauch ist schön violett gefärbt, und die Stellen beginnen mit narbiger Einziehung zu heilen, so dass das Tier, dessen Gewicht am 32. Tage 1470 Gramm ist, von der Injektion mit Methylviolett nichts als die zwei Narben davontragen wird.

Ein zweiter Versuch mit Methylviolett wurde nun in der Weise gemacht, dass nur die Hälfte der erst injicierten Menge, also nur 0,025 auf das Kilogramm genommen wurden. Ein grosses

schwarzes Kaninchen von 2090 Gramm Gewicht erhielt demnach 0,05175 Substanz in Lösung auf $2^1/_2$ Pravazspritzen verteilt. Auch dieses Tier bot keinerlei abnorme Erscheinungen mit Ausnahme wieder geringer lokaler Affektionen. Am 20. Tage wurde auf dem Bauche eine kaum pfenniggrosse trockene Hautgangrän, ebenso an den beiden Seiten je eine etwa gleich grosse Stelle bemerkt. Die Gangrän hat sich nach circa 23 Tagen demarkiert und nach 27 Tagen fast völlig abgestossen. Gewichtsabnahme in nennenswerter Weise war während der ganzen Zeit nicht zu bemerken.

Methylviolett scheint also auf den Warmblüter in geringen Dosen lediglich eine lokale Wirkung auszuüben, sicherlich aber keine dauernd schädliche toxische.

Beim 2. Versuche mit Malachitgrün erhält ein 1370 Gramm schweres Tier von 4% Lösung 0,137 Substanz in Lösung, auf $3^1/_2$ Spritzen verteilt.

Bis zum 3. Tage zeigt das Tier keinerlei Abnormität.

Vom 3. Tage an nimmt es keine Nahrung mehr zu sich und zeigt eine geringe Parese sämmtlicher Extremitäten. Am 4. Tage ist die Parese, namentlich der hinteren, stärker geworden. Ins Freie gebracht, frisst das Tier das frische Gras ganz munter, während es im Käfig nichts annimmt.

Am 7. Tage ist die Parese der hinteren Extremitäten sehr stark geworden; die der vorderen ist immer noch schwach; legt man das Tier auf eine Seite, so ist es nicht im Stande, sich selbst aufzurichten, sondern strampelt nur ängstlich mit den Beinen. Harn hellgrün gefärbt.

8. Tag. Lähmung vollständig; das Tier liegt auf der Seite und hat von Zeit zu Zeit starke Zuckungen in den Extremitäten; es nimmt keinerlei Nahrung mehr zu sich. Abmagerung; Harn hellgrün.

Am 9. Tage Vormittags tritt nach vorausgegangener starker Dispnoe und starken Muskelzuckungen der Tod ein.

Sektion: Haut durchweg grün gefärbt, besonders an den Seiten. Muskulatur blassbraunrötlich; Fascien nicht gefärbt. Herz: Muskulatur sehr schlaff; Lungen, Leber, Gallenblase normal. Magen sehr stark angefüllt mit grünem Speisebrei; Schleimhaut normal; Darm durchweg kontrahiert und leer; Nieren normal. Blase sehr stark durch hellgrünen Harn ausgedehnt; Schleimhaut normal. Centralnervensystem nichts Abnormes.

Es wurde nun dieses Experiment nur mit der Hälfte der vorhin injicierten Quantität wiederholt.

Ein braunes Kaninchen, 1655 Gramm schwer, erhält 0,0878 Substanz in Lösung auf $2^4/_5$ Spritzen verteilt von der 4% gesättigten Lösung.

Die ersten 10 Tage verhält sich das Tier durchaus normal.

Am 11. Tage kann sich das Tier nur durch langsames Kriechen weiter bewegen, wegen einer geringen Parese der hinteren Extremitäten. Nahrungs-Aufnahme und -Abgabe normal. Nach einigen Tagen ist die Parese wieder verschwunden.

Am 23. Tag bemerkte ich an dem bisher ganz munteren Tier, dass es ganz stumpfsinnig im Käfig sass; am ersten Hoden war eine beginnende Hautgangrän zu beobachten, sowie zwischen beiden Hoden und dem Penis eine Anzahl sich lebhaft bewegender $1^1/_2$ cm. langer weisser Würmer. Gewicht des Tieres war auf 1410 Gramm herabgesunken. Da das Tier bei längerer Beobachtnng sehr zu leiden schien, so wurde es getötet.

Sektion: Muskulatur nur im Bereiche der Injektionsstelle grün gefärbt. In der Brusthöhle beiderseitig ein sehr starkes reineitriges, pleuritisches Exsudat. Beide Lungen: Unterlappen pneumonisch infiltriert, dunkelrot, luftleer; die übrigen Lappen normal; Herz normal. Magen-Darmkanal normal; sehr stark gefüllt; Leber ziemlich blutreich; Gallenblase stark kontrahiert; Nieren sehr anaemisch, Rindensubstanz gelblich, Pyramiden schwach rosa gefärbt. Rechter Hoden: Haut äusserlich gangränös, am linken Hoden Beginn. Hoden selbst beide normal. Centralnervensystem normal.

Die Pneumonie und Pleuritis, sowie die Hautgangrän am Hoden sind sicherlich nicht auf eine Wirkung des Malachitgrün zurückzuführen, welches bei diesem Tiere in kleiner Dosis in der langen Zeit von 23 Tagen wahrscheinlich gar keine Erscheinung gemacht hatte. In der stärkeren Dosis hat es sicher stark giftige Wirkung.

Ein drittes Tier, das wieder mit der starken Dosis, 0,1 aufs Kilogramm, eingespritzt wurde, zeigte bis jetzt, bis zum 4. Tage, keinerlei Abnormität.

3. Versuche mit 0,2% Trimethylrosanilinlösung.

Ein 1400 Gramm schweres Kaninchen von weisser Farbe erhält 0,028 Substanz in Lösung auf 14 Spritzen verteilt.

Das Tier zuckt im Gegensatz zu den andern Versuchstieren hastig bei den Injektionen zusammen und schreit mitunter laut auf. Im Käfig zuckt es bei jeder leisen Berührung stark zusammen.

2. Tag. Das Tier hat seit der Injektion Nichts gefressen; geringe paretische Erscheinungen an den Extremitäten. Wirft man das Tier um, so ist es nur nach ziemlicher Anstrengung wieder im Stande, sich aufzurichten.

6. Tag. Status idem. Harn leicht hellviolett gefärbt. Fast keine Nahrungsaufnahme.

9. Tag. Seit zwei Tagen sichtliche Abmagerung. Parese, namentlich hinten, hat an Stärke zugenommen.

10. Tag. Vollständige Paralyse; das Tier liegt auf der Seite und macht von Zeit zu Zeit vergebliche Anstrengungen, sich aufzurichten. Kolossale Abmagerung. Starke Dispnoe; 40 Athemzüge in der Minute; nach 1 Stunde nur noch 30.

Das Tier wird, da es sich doch nicht mehr erholen kann, getötet.

Sektion: Muskeln und Haut durchweg normal gefärbt.

Im Magen eine geringe Menge Speisebrei; auf der Schleimhaut einige über linsengrosse Blutextravasate; Blase leer. Alle übrigen Organe vollständig normal.

Es wird nun ein braunes, 1290 Gramm schweres Tier nur mit der Hälfte injiciert; also erhält es 0,0129 Substanz auf $6^9/_{20}$ Spritzen verteilt.

3. Tag. Geringe Parese der hinteren Extremitäten; welche am 11. Tage rechts hinten und links hinten am 12. Tage verschwunden ist.

Am 16. Tage an beiden Einspritzungsstellen eine geringe, etwa Pfennigstückgrosse, trockene Hautgangrän bemerkbar, die weiter keine Erscheinung macht. Nahrungs-Aufnahme und -Abgabe stets normal.

Da das Tier vollständig gesund ist, wird es am 20. Tage zu anderen Versuchen verwandt.

4. Ein weisses Kaninchen 1770 Gramm schwer, mit 0,135 Methylenblau injiciert, auf $4^1/_2$ Spritzen verteilt, bleibt vollständig gesund, ebenso 5. ein 1420 Gramm schweres Tier mit 0,142 Phenylblau (auf $3^1/_2$ Spritzen verteilt) in Lösung. Beim ersteren lediglich Blaufärbung der Rücken- und Bauchhaut an manchen Stellen; bei letzterem trat am 3. Tage grünlicher Harn auf; auch ist eine geringe Abmagerung zu konstatieren.

6. Ein hellbraunes, 1530 Gramm schweres Kaninchen erhielt $3^8/_{10}$ Spritzen von gesättigter Rose Bengalelösung, also 0,38 Substanz.

Am 2. Tage trat geringe Parese der hinteren Extremitäten auf, war jedoch am 8. Tage wieder völlig verschwunden. In den

ersten Tagen war eine mässige Abmagerung nachzuweisen, die jedoch bald wieder fast behoben wurde. Der sonstige Zustand vollständig normal.

Aus den drei letzten Versuchen geht mit Sicherheit hervor, dass Methylenblau, Phenylblau und Rose Bengale gar keinen oder wenigstens keinen nennenswerten und nur vorübergehenden toxischen Einfluss in mässigen Dosen auszuüben im Stande sind.

Gegen den Kaltblüter haben sich alle 6 Farben ausnahmslos stark giftig erwiesen.

Zusammenfassung.

Das Endergebnis der in vorliegender Arbeit beschriebenen Versuche gestaltet sich nun wie folgt.

1. Das zu den Rosanilinen gehörige Methylviolett hat sich sowohl in gesättigten Lösungen als auch in schwächeren und sogar in 0,07 % Lösung bei Einwirkung von 24 Stunden bis zu einer Minute in sämtlichen Versuchen vollständig aufhebend für die Entwicklung von pathogenen Pilzen, speziell des Staphylococcus pyogenes aureus und des Bacillus Anthracis erwiesen; seine Giftigkeit gegen den Organismus des Warmblüters beschränkt sich in schwachen Dosen und zwar — 0,05 aufs Kilogramm (Kaninchen) auf rein örtliche Affektionen.

2. Das den Rosanilinen verwandte Malachitgrün bewies ebenso in sämtlichen Versuchen, sowohl in gesättigten Lösungen bei kürzester Einwirkung von 1 Minute, als auch in schwachen Lösungen von 0,133 Prozentgehalt bei Einwirkung von 24 Stunden, dass es vollständig aufhebend auf die Entwicklung des Pyogenes aureus und des Milzbrandes wirkt. Seine Giftigkeit gegen Warmblüter scheint noch in Dosen von 0,1 aufs Kilogramm eine starke zu sein; jedoch in der Dosis von 0,05 ist dasselbe schon nicht mehr als giftig zu betrachten.

3. Der Gruppe der Rosaniline gehört ferner an das Trimethylrosanilin oder Hofmann's Violett. Dasselbe erwies sich in concentrierten Lösungen gegen Pyogenes aureus bei kurzer Einwirkung von einer Minute aufhebend, bei schwächeren Lösungen dagegen nur stark verzögernd. Gegen Milzbrand wirkt es in concentrierten Lösungen lediglich verzögernd. Seine Giftigkeit ist in der Dosis von 0,02 aufs Kilogramm für den Warmblüter eine grosse; in der Dosis von 0,01 hat es lediglich eine örtliche Giftwirkung zur Folge.

4. Zu den Rosanilinen gehört ferner noch das Phenylblau oder Triphenylrosanilin. In gesättigten Lösungen wirkt es bei ganz kurzer Einwirkung von nur einer Minute sicher aufhebend gegen den Pyogenes aureus und gegen den Milzbrand; in schwächeren Lösungen wirkt es lediglich sehr stark verzögernd. In der Dosis von 0,1 aufs Kilogramm besitzt es für den Warmblüter keine Giftigkeit.

5. Methylenblau wirkt selbst in der schwachen 0,1% Lösung vollständig aufhebend für den Staphylococcus pyogenes aureus; gegen Milzbrand wirkt es in gesättigten Lösungen bei ganz kurzer Zeitdauer nur verzögernd. Giftigen Einfluss auf den Warmblüter besitzt das Präparat in der Dosis von 0,075 aufs Kilogramm nicht.

6. Das zu den Fluoresceïnen gehörige Rose Bengale wirkt bei kürzester Einwirkung in starken Lösungen sicher aufhebend gegen den Staphylococcus pyogenes aureus, in der schwachen 0,33% Lösung lediglich verzögernd; gegen Milzbrand scheint die Substanz gar keine Wirkung in concentrierten Lösungen bei kurzer Einwirkung zu haben, höchstens eine hemmende bei längerer. Dem Warmblüter gegenüber zeigt Rose Bengale keine nennenswerten toxischen Eigenschaften.

Aus dieser Zusammenfassung geht hervor, dass Methylviolett und Malachitgrün hervorragende antibakterielle Eigenschaften besitzen, indem sie sich namentlich durch

eine ungemein rasche Einwirkung auf pathogene Pilze auszeichnen; gerade wegen dieser Eigenschaft glaube ich, dass diese beiden Substanzen entschiedene Beachtung verdienen, um so mehr, da sie in ganz kleinen Dosen kaum mehr giftig wirken. Einer praktischen Anwendung werden sich jedoch durch die hervorragende Färbekraft der Substanzen vielleicht Schwierigkeiten entgegenstellen. Am nächsten in der Wirkung kommt dann Phenylblau, das sich durch geringe Giftigkeit auszeichnet; auch dieses Präparat besitzt ausgezeichnete antibakterielle Eigenschaften. Trimethylrosanilin und Methylenblau fallen in ihrer Wirkung schon bedeutend gegen die vorgenannten Stoffe ab durch ihre geringe Wirksamkeit gegen Milzbrand; ersteres ist ein ziemlich starkes Gift, letzteres absolut ungiftig in den angegebenen Dosen.

Rose Bengale hat von allen 6 genau untersuchten Stoffen die geringsten antibakteriellen Eigenschaften; gegen den Warmblüter verrät es in Dosen von 0,25 aufs Kilogramm keine Giftigkeit.

Von den 3 letzt besprochenen dürfte vielleicht nur noch Methylenblau eine weitere Beachtung finden.

Der Umstand, dass bei Kaltblütern alle 6 Substanzen ohne Ausnahme so sehr stark giftig wirkten, dürfte, da hierbei sehr grosse Dosen genommen wurden im Verhältniss zu den Warmblütern, wegen der bei diesen gefundenen Resultate weiter keine Rücksicht erfahren.